

氏 名 肖 維 (XIAO WEI)	
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第 7 1 5 8 号
学位授与の日付	2 0 2 4 年 9 月 2 5 日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Study on determinants of pronuclear size: cytoplasmic volume and chromosome number (前核サイズの決定因子に関する研究：細胞質量と染色体数)
論文審査委員	教授 西野 直樹 教授 木村 康二 教授 辻 岳人
学位論文内容の要旨	
The morphology and size regulatory mechanisms of pronuclei in mammalian fertilized eggs are poorly understood, with limited research available. Pronuclear size and morphological changes are closely linked to embryo development and live birth rates. Assessing pronuclear dynamics non-invasively can effectively evaluate embryo quality and potential, minimizing damage. This study examines pronuclear-to-cytoplasmic (PN/C) ratios, pronuclear size regulation, and the impact of elevated intracellular cAMP levels on oocyte maturation, aiming to enhance understanding of nuclear size dynamics in mammalian zygotes and improve ART outcomes. The first study investigates the PN/C ratios of 1PN (one pronucleus) and 2PN (two pronuclei) zygotes following the <i>in vitro</i> fertilization of mouse oocytes. The focus is on understanding PN size regulation at the end of meiosis II in mammalian zygotes. The research highlights the correlation between pronuclear size and oocyte cytoplasm volume, with male pronuclei having a higher PN/C ratio compared to female pronuclei. The study reveals that PN size significantly influences the developmental potential of zygotes, offering insights that could enhance ART practices. The second study explores the effects of elevated intracellular cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels on abnormal cytokinesis and oocyte maturation during the meiosis of mouse oocytes. The focus is on understanding how increased cAMP levels influence the formation of aggregated chromatin/chromosomes (AC) and the subsequent implications for oocyte and embryo development. High concentrations of isobutylmethylxanthine (IBMX), a nonspecific PDE inhibitor, cause AC after the first meiosis. The AC rates increase with higher IBMX levels, however, AC formation is reversible, allowing spindle chromosome complex re-formation after IBMX removal. Suggesting a potential mechanism for AC formation that also occurs in humans and pigs. The research highlights the potential of AC transfer as a safer nuclear transfer method with less mitochondrial carryover, offering promising applications for individuals with mitochondrial diseases. The third study investigates the correlation between the PN/C ratio and chromosome count in mouse zygotes, emphasizing the implications for aneuploidy assessment in ART. This study employs enucleation and aggregated chromosome transfer (ACT) techniques to create oocytes with varying chromosomal counts and analyzes PN dynamics through time-lapse imaging and immunofluorescence staining. The study finds that higher chromosome numbers correspond to a higher PN/C ratio, indicating that oocytes with higher chromosomal counts exhibit larger PN. The research underscores the complexity of PN size regulation and its correlation with chromosomal content, suggesting that the PN/C ratio could serve as a biomarker for zygote quality and aneuploidy in ART. This thesis provides significant insights into the regulation of nuclear size in mammalian zygotes and its implications for ART. By examining the PN/C ratios of zygotes, the correlation between PN/C ratio and chromosome number, and the effects of elevated cAMP levels on oocyte maturation, the studies collectively contribute to a deeper understanding of nuclear size dynamics. These findings have potential applications in improving ART outcomes, particularly in assessing zygote quality and aneuploidy, and offer new avenues for safer nuclear transfer methods in treating mitochondrial diseases.	

論文審査結果の要旨

哺乳動物の卵母細胞は第2減数分裂の中期で排卵される。精子と受精すると染色体の半分が外部に極体として放出され、残りの半分の染色体は凝集し、核相Nの雌性前核を形成する。精子も受精後、核相Nの雄性前核を形成し、この2つの前核が融合することにより胚が成立する。ヒトの生殖医療において、高齢女性からの受精卵は受精後異数体を形成する頻度が上昇することが知られており、染色体数が正常でない異数体胚が形成される。異数体胚の多くは発生途中で停止するが、ダウン症やターナー症等の場合、胚は死滅することなく染色体異常産子となる。本学位論文はマウス前核期胚における前核のサイズ/細胞質比がどのような因子によって決定されるかのメカニズムについての研究である。

本論文は3つの研究からなる。最初の研究では卵母細胞を2枚のガラスで圧縮することで、第2減数分裂時に細胞質量が変化することを利用して、様々なサイズの細胞質を有する卵母細胞を作製し、受精後の核サイズと細胞質比について検討している。雌雄前核ともそのサイズは細胞質量に影響を受け、さらに細胞質量が極度に低下して場合は雌雄両前核が初めから融合するという極めて興味深い現象を見出している。次の研究では、卵母細胞をIBMX処理することにより卵細胞質内のcAMPを高めると、染色体凝集が複数形成される現象を見出している。最後の研究では上記のIBMXの実験系を利用し、様々な染色体数を有する染色体凝集体を形成し、これを正常な卵母細胞に移植することにより前核を形成させ、前核/細胞質比がどのように変化するかについて研究を実施している。その結果、染色体数が多いほど大きな前核を形成するとともに、細胞質が大きいほどそのサイズも大きくなることが明らかとなった。

以上の研究結果は、哺乳動物前核期胚の核形成メカニズムならびに前核サイズの決定要因を明らかにするとともに、上記の知見はヒトの生殖補助医療への適用、すなわち非侵襲的な異数体胚の検出に応用できる基礎的知見を提供し得るものと判断出来、学位授与に相当する研究内容であると判断出来る。